

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1929

THÈSE

POUR

N°

66

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PRÉSENTÉE

Par **RAOUL VAURS**

Né le 8 Octobre 1899, à Marignac (Puy-de-Dôme).

**DU RÔLE DE LA PHAGOCYTOSE
DANS L'ACTION DU BISMUTH
SUR LES
TRYPANOSOMIASES ET LES SPIROCHÉTOSES**

PRÉSIDENT : M. PAUL CARNOT, Professeur.

Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'Enseignement médical.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

1, RUE CASSETTE, 1

1929



FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1929

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PRÉSENTÉE

Par **RAOUL VAURS**

Né le 8 Octobre 1899, à Marignac (Puy-de-Dôme).

DU RÔLE DE LA PHAGOCYTOSE
DANS L'ACTION DU BISMUTH
SUR LES
TRYPANOSOMIASES ET LES SPIROCHÉTOSES

PRÉSIDENT : M. PAUL CARNOT, Professeur.

Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'Enseignement médical.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

1, RUE CASSETTE, 1

1929

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Le Doyen. Professeurs

Anatomie	M. ROGER.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale.	MM.
Physiologie	ROUVIERE.
Physique médicale.	CUNEO.
Chimie médicale.	ROGER.
Bactériologie.	STROHL.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	DESGREZ.
Pathologie et thérapeutique générales	LEMIERRE.
Pathologie médicale	BRUMPT.
Pathologie chirurgicale.	MARCEL LABBÉ.
Anatomie pathologique.	N....
Histologie	LECENE.
Pharmacologie et matière médicale	ROUSSY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHAMPY.
Thérapeutique	TIFFENEAU.
Hygiène et médecine préventive.	MAURICE VILLARET.
Médecine légale	LOEPER.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	TANON.
Pathologie expérimentale et comparée.	BALTHAZARD.
	MENETRIER.
	RATHERY.
	CARNOT.
	BEZANÇON.
Clinique médicale	ACHARD.
	N....
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique de la tuberculose	LÉON BERNARD.
	DELBET.
Clinique chirurgicale	HARTMANN.
	LEJARS.
Clinique ophtalmologique.	GOSSET.
Clinique urologique	TERRIEN.
	LEGUEU.
Clinique d'accouchements.	COUVELAIRE.
	BRINDEAU.
Clinique gynécologique.	JEANNIN.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	J.-L. FAURE.
Clinique thérapeutique médicale	OMBREDANNE.
Clinique oto-rhino-laryngologique	VAQUEZ.
Clinique thérapeutique chirurgicale	SEBILÉAU.
Clinique propédeutique.	PIERRE DUVAL.
Professeur sans chaire.	SERGENT.
	BRANCA.



Agrégés en exercice :

MM. ABRAMI	MM. DEBRÉ	MM. JOYEUX	MM. MOURE
ALAJOUANINE	DOGNON	LABBÉ (HENRI)	MULON
AUBERTIN	DONZELOT	LARDENNOIS	OBERLING
BASSET	DUVOIR	LEMAITRE	OLIVIER
BAUDOUIN	ECALLE	LEROUX.	PHILIBERT
BINET	FIESSINGER	LEVY-SOLAL	QUENU
BLANCHETIÈRE	GARNIER	LHERMITTE	RICHTER fils
BROCQ	GATELLIER	LIAN	SEZARY
BRULÉ	GIROUD	MATHIEU	VALLERY-RADOT
CADENAT	HARVIER	MERCIER (FER-	(PASTEUR)
CHABROL	HEITZ-BOYER	NAND)	VAUDESCAL
CHIRAY	HOVELACQUE	METZGER	VELTER
CLERC	HUTINEL	MONDOR	VERNE

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MA MÈRE

A MA FEMME

MEIS ET AMICIS

A MONSIEUR LE DOCTEUR ROUX

DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR
MEMBRE DE L'INSTITUT

A MONSIEUR LE DOCTEUR LOUIS MARTIN

SOUS-DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

*En témoignage de ma gratitude
et de mon respectueux attachement.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR ALBERT CALMETTE

SOUS-DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR
MEMBRE DE L'INSTITUT
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
GRAND'CROIX DE LA LÉGION D'HONNEUR

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR PAUL CARNOT

PROFESSEUR DE CLINIQUE MÉDICALE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS
MÉDECIN DES HOPITAUX

*qui nous a fait le grand honneur
de bien vouloir présider à cette
thèse.*

A MONSIEUR R. SAZERAC

CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR

*qui fut pendant cinq années notre
maître au laboratoire et qui nous a
inspiré ce travail.*

*Qu'il trouve ici l'expression de
toute notre gratitude et de notre
fidèle attachement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

Hommage très respectueux.

A MES MAITRES DE L'HOPITAL PASTEUR
MESSIEURS LES DOCTEURS VEILLON, DARRÉ,
ABBÉ MAUMUS

A MES MAITRES DE L'INSTITUT PASTEUR
MESSIEURS LES DOCTEURS SALIMBENI, LOISEAU,
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE

A MONSIEUR EDMOND TENDRON

CHEF DE SERVICE A L'INSTITUT PASTEUR

A MES MAITRES DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
DE CLERMONT-FERRAND

A MES MAITRES DES HOPITAUX DE PARIS

DU ROLE DE LA PHAGOCYTOSE

DANS L'ACTION DU BISMUTH

SUR LES TRYPANOSOMIASES ET LES SPIROCHÉTOSES

Depuis les premiers travaux de Metchnikoff sur la digestion intracellulaire, le rôle des globules blancs dans la défense de l'organisme a été définitivement établi.

Des recherches nombreuses, effectuées à ce sujet, ont montré que l'action des leucocytes s'exerce aussi bien vis-à-vis des corps inertes (déchets cellulaires, substances étrangères indifférentes), que des éléments doués d'un pouvoir nettement pathogène (microbes et toxines, poisons minéraux ou organiques).

D'autre part, les études de Pfeffer sur les végétaux inférieurs (1883) ont inauguré la série des travaux qui ont permis de préciser dans une certaine mesure le mécanisme de l'action phagocytaire.

L'introduction d'une substance étrangère au sein des humeurs ou des tissus provoque, de la part des leucocytes, des réactions diverses qui évoquent l'idée d'une sorte de sensibilité à distance.

En présence d'un corps chimique ou d'un élément cellulaire, le phagocyte peut subir une action attractive ou répulsive, ou même demeurer indifférent. C'est l'ensemble de ces phénomènes qu'on désigne sous le nom de chimiotaxisme.

Les premiers, Jean Massart et Charles Bordet (1) soumettent à une étude systématique cette question du chimiotaxisme leucocytaire. Leur méthode de recherche consiste à introduire

(1) Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles, février 1890.

dans un tube capillaire, fermé à une extrémité, les cultures microbiennes à étudier, et à inclure ce tube dans un milieu contenant des leucocytes en abondance (cavité lymphatique de la grenouille). Au bout de quelques heures, on retire ces tubes capillaires, et on constate que les leucocytes en occupent l'extrémité libre, formant une « bourre » plus ou moins longue et plus ou moins épaisse suivant le pouvoir attractif de la substance étudiée.

Gabritchewsky (1) adopte cette technique, mais étend l'étude du chimiotaxisme leucocytaire à de nombreux produits chimiques (sels de soude, de potasse, de fer), ou médicamenteux (antipyrine), ainsi qu'à des matières colorantes (bleu de méthylène, éosine), et à des poisons végétaux (jéquirity, papayotine).

Bientôt, Kobert et l'école de Dorpat (2) publient une série de recherches sur le rôle des leucocytes dans l'absorption et l'élimination des sels de fer. Ils injectent à différents animaux des quantités variables d'un saccharate de fer oxydé très soluble (Horneman) et constatent que, si une petite partie du métal injecté est éliminée avec l'urine et les fèces, la plus grande partie est retenue dans les organes. C'est ainsi que dans le foie, la rate, la moelle des os, le métal est fixé par l'intermédiaire des leucocytes.

Samoiloff (3) montre que, lors des injections effectuées avec des sels d'argent, on observe aussi une évacuation partielle hors de l'organisme et une fixation dans les mêmes organes, toujours par l'intermédiaire des leucocytes.

Metchnikoff (4), à l'aide de la réaction microchimique au ferrocyanure de potassium, décèle la présence de ce même sel de fer qui avait servi à Kobert, dans diverses cellules à rôle phagocytaire bien connu (leucocytes, cellules endothéliales du foie, cellules de la pulpe splénique) à l'exclusion d'autres espèces de cellules, que l'on sait être incapables d'accomplir l'acte phagocytaire (lymphocytes par exemple).

(1) GABRITCHEWSKY : Sur les propriétés chimiotaxiques des leucocytes. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, p. 347.

(2) *Arbeiten d. pharmacologischen Instituts zu-Dorpat*, 7 à 10, 1894.

(3) *Arbeiten d. pharmacologischen Instituts, Dorpat*, 1893, p. 27.

(4) METCHNIKOFF : L'état actuel de la question de l'immunité. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 706.

L'année suivante, Charrin et Carnot (1) font la remarque que le plomb se dépose de préférence dans les organes lésés, mais ne réussissant pas à déceler le métal dans le pus ils déniaient aux leucocytes le rôle de vecteur du produit chimique. Cependant, comme le fait remarquer Metchnikoff, « la contradiction n'est sans doute qu'apparente : les cellules mortes du pus sont incapables d'absorber le métal, mais ce sont vraisemblablement d'autres phagocytes, peut-être des cellules endothéliales des parties lésées, qui accomplissent la résorption ».

Stassano (2) publie en 1898, 1899 et 1900 une série de recherches intéressantes sur l'absorption du mercure par les leucocytes. Étudiant la circulation pulmonaire chez une grenouille qui a reçu une forte dose de bichlorure de mercure, il constate que l'injection dans le sang d'iodure de potassium amène une diminution très notable de la réfringence des leucocytes, et attribue ce fait à la formation intracellulaire d'iodure mercurique. De plus, injectant du sublimé à des chiens, et provoquant ensuite un afflux de leucocytes dans la cavité péritonéale par injection de sérum physiologique, il démontre par l'analyse chimique que les leucocytes ainsi recueillis contiennent une quantité notable de mercure. La séparation des globules blancs du sang, chez un animal ayant reçu au préalable une injection d'un sel soluble de mercure, permet d'effectuer des dosages comparatifs avec une même quantité de globules rouges d'une part, de plasma d'autre part. On constate alors que si l'analyse chimique des leucocytes démontre nettement la présence du mercure, ce métal est au contraire en si petite quantité dans les globules rouges et le plasma qu'il est impossible de l'y déceler.

En ce qui concerne la fixation des substances insolubles par les leucocytes, on doit attacher une importance toute particulière aux recherches de Besredka (3). En pratiquant des injections d'un composé arsenical insoluble en émulsion dans l'eau, le trisulfure rouge d'arsenic, il est facile de suivre le sort de ce produit dans l'organisme par l'examen de prises successives

(1) CHARRIN et CARNOT. *Semaine médicale*, 1894.

(2) STASSANO. *C. R. Acad. des Sciences*, 2, 1888, p. 680.

(3) BESREDKA : Du rôle des leucocytes dans l'intoxication par une combinaison sulfurée d'arsenic. *Annales de l'Institut Pasteur*, 13, 1899, p. 49.

de liquide péritonéal. On constate que, pour une dose non toxique, après une phase d'hypoleucocytose passagère, les leucocytes reviennent en masse dans le péritoine et s'emparent de fines particules arsenicales reconnaissables à leur couleur. Que si au contraire la dose injectée est trop forte, la phagocytose n'a pas lieu, et l'animal meurt. On peut même, dans une certaine mesure évidemment, obtenir des résultats diamétralement opposés avec des doses sensiblement égales de toxique, suivant que l'on augmente ou diminue l'activité de la phagocytose. Ainsi des injections de pilocarpine, augmentant dans une proportion notable le nombre des macrophages qui sont, on le sait, les cellules les plus aptes à englober les particules étrangères, peuvent préserver l'animal d'une dose mortelle. Au contraire, si l'on a eu soin, pour diminuer la puissance d'englobement des leucocytes, de les bourrer au préalable de particules inertes (injection intrapéritonéale de carmin), la dose d'arsenic qui en temps normal eût été bien supportée ne tarde pas à déterminer de graves phénomènes toxiques.

Si maintenant, chez un animal qui a reçu une dose non mortelle d'arsenic, on poursuit au jour le jour l'étude des leucocytes péritonéaux, on ne tarde pas à s'apercevoir que l'aspect des inclusions intracellulaires change. Les granulations arsenicales, qui au début étaient de taille considérable et occupaient le centre du leucocyte, sont maintenant comme émiettées et repoussées à la périphérie, puis deviennent totalement invisibles. Y a-t-il eu simplement solubilisation et passage de l'arsenic dans les humeurs? Non, sans aucun doute, puisqu'il n'y a pas intoxication. Il faut donc admettre que les leucocytes, fidèles à leur rôle de défenseurs de l'organisme, sont parvenus à transformer ce corps arsenical insoluble en un composé soluble non toxique qui sera éliminé. On voit donc toute l'importance de l'acte phagocytaire : « l'acte essentiel de la phagocytose ne commence que l'englobement terminé, et ce qui nous le fait croire c'est que la substance toxique cesse de l'être après passage à travers le corps des leucocytes » (1).

Ces observations ont été suivies de nouvelles recherches du

(1) BESSEDKA. *Loco citato*, p. 64.

même auteur (1), relatives au rôle des leucocytes dans l'intoxication par l'acide arsénieux (corps soluble) et d'où il résulte que, après injection d'une dose suffisante de ce corps, les leucocytes du sang séparés par centrifugation renferment de l'arsenic, alors que les hématies et le plasma en sont dépourvus.

Au Congrès médical international de 1900, Arnozan et Montel (2) donnent le résultat de leurs recherches sur l'absorption par les leucocytes du calomel en suspension huileuse. Ayant vu les globules blancs venir dissocier les amas de sels mercuriels qui disparaissent assez vite alors que justement les leucocytes se chargent de granulations, il est difficile d'admettre, disent-ils, qu'il n'y a pas eu englobement, peut-être même transformation chimique, en tous cas, très vraisemblablement transport dans l'organisme. Etendant leurs observations à l'étude du salicylate de soude, ils ont injecté sous-cutanément des solutions de ce sel, et ont constaté que, quelques heures après, le foyer d'injection est farci de leucocytes. Mis en présence de perchlorure de fer, ces leucocytes, normaux l'instant d'avant à l'examen microscopique, se montrent maintenant parsemés de granulations noires, les composés salicylés absorbés s'étant transformés en salicylate de fer.

Citant ensuite les expériences de Landerer, qui aurait établi que les leucocytes chargés de produits étrangers à l'organisme ont tendance à se porter vers les organes qui présentent des lésions, les auteurs concluent (3) :

« S'il en est ainsi réellement, les globules blancs imprégnés de substances médicamenteuses doivent porter le remède au foyer même du mal, et le remède peut n'agir que faiblement ou même pas du tout sur le reste de l'économie. »

Fort intéressantes aussi sont les recherches de Calmette en ce qui concerne le mécanisme de préservation contre des doses relativement fortes d'atropine (4).

(1) BESREDKA. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899, p. 209 et 465.

(2) Congrès International de Médecine, Paris. Section de Thérapeutique 1900, p. 181.

(3) ARNOZAN et MONTEL. *Loco citato*, p. 181.

(4) CALMETTE. *C. R. Soc. Biologie*, Cinquantenaire, 1899, p. 202.

L'injection de 0 gr. 20 de sulfate d'atropine, par voie intraveineuse, chez le lapin, ne provoque aucun effet toxique. Par contre, la dose de 2 milligrammes du même sel introduit dans la substance cérébrale amène rapidement les phénomènes d'intoxication ordinaires dus à l'atropine. De plus, si l'on sépare, après centrifugation, d'une part le sérum clair du sang d'un lapin ayant reçu dans la veine 0 gr. 20 de sulfate d'atropine, puis, d'autre part, la partie renfermant les leucocytes et si l'on injecte séparément sérum (après concentration) et leucocytes, dans le cerveau de lapins neufs, on constate les phénomènes suivants :

1° L'injection de 0 c. c. 5 de sérum concentré représentant 1 cent. cube de sérum frais ne donne lieu à aucun accident grave ;

2° L'injection, dans le même organe, de la masse leucocytaire, à la dose de 1 cent. cube, provoque immédiatement des accidents identiques à ceux que nous observons par injection intracérébrale de 0 gr. 001 environ d'atropine.

De ces résultats, Calmette conclut que les leucocytes des animaux naturellement réfractaires, comme vraisemblablement ceux des animaux vaccinés par accoutumance, possèdent le pouvoir d'arrêter et de fixer dans leur protoplasma les poisons chimiques tels que les alcaloïdes, de même qu'ils englobent et digèrent les microbes.

Marcel Labbé et Lortat-Jacob (1) ont étudié l'absorption de l'iode par les leucocytes.

Examinant des animaux immédiatement après l'injection intrapéritonéale de liqueur de Gram ou d'huile iodée, ils ont pu constater que certains leucocytes ont à leur périphérie une masse de granulations jaunes en forme de croissant, granulations qui bientôt disparaissent, laissant à leur place « une formation jaune, rocheuse, qui indique la modification de l'iode à l'intérieur de la cellule ». La réaction microchimique au bichlorure de mercure en solution saturée permet de s'assurer que certains leucocytes contiennent bien de l'iode ; et l'impossibilité de reproduire cette réaction au bout d'un certain temps conduit tout naturellement à soupçonner une transformation

(1) Absorption de l'iode et des composés iodés par les leucocytes. *Soc. Biol.*, 4 juillet 1902.

plus complète et une assimilation de l'iode par le plasma leucocytaire.

Plus intéressantes encore pour nous sont les recherches de Carles, de Bordeaux (1), en ce qui concerne le sous-nitrate de bismuth. Ayant fait ingérer des doses journalières de ce sel à des chiens, il provoque chez eux un abcès de fixation, recueille le pus ainsi collecté et parvient à y déceler et à y doser le bismuth.

Les phénomènes de fixation, d'englobement et de transformation dont nous venons de parler semblent être complétés par une intervention plus immédiate encore des phagocytes au cours du processus thérapeutique consécutif à l'injection de substances chimiques dans les tissus. Ainsi que le faisait remarquer Marcel Labbé (2) en 1903, « il est probable que les médicaments injectés sous la peau, dans le péritoine ou dans le sang, sont apportés par les leucocytes dans les régions du corps malades, irritées ou traumatisées. C'est là une conséquence de la loi de Max Schuller sur les localisations morbides; ce ne sont pas seulement les microbes qui sont attirés par le point faible, mais aussi les principes utiles ». Schuller croit avoir démontré que le cinabre injecté dans la circulation est, chez les animaux malades, déposé dans les foyers morbides, au lieu d'être, comme chez les animaux sains, apporté dans le foie, la moelle des os. « Ainsi, dit encore Marcel Labbé, grâce aux leucocytes, le médicament serait transporté dans l'organisme et irait, avec une électivité remarquable, apporter aux tissus malades l'énergie dont ils ont besoin pour lutter contre le processus pathologique. Le mercure serait apporté aux éléments éruptifs de la syphilis, le fer aux organes hématopoïétiques dans les anémies, le salicylate de soude aux articulations malades, etc. Mais il ne faut pas oublier que les médicaments paraissent avoir aussi une spécificité de localisation, et que telle substance introduite dans l'organisme se fixera sur tel organe. » Il est bien certain que l'on ne doit pas exagérer la part de l'électivité dans le transport des médicaments par les leucocytes vers les régions infectées. Cela

(1) *C. R. Soc. Biologie*, 1910, p. 327.

(2) Marcel LABBÉ, *Presse Médicale*, 17 octobre 1903, p. 726.

conduirait, en effet, à reconnaître, chez ces cellules particulières, l'existence d'une sorte de pouvoir conscient qui, logiquement, ne saurait leur être attribué. Il est tout naturel, du reste, de supposer que l'élément curatif afflue dans les tissus lésés par le seul fait que les phagocytes, qui lui servent de support, y sont attirés en grand nombre à la suite d'un phénomène de chimiotaxie positive, remarquablement intense, provoqué par l'infection microbienne.

Recherches concernant la phagocytose du bismuth.

Les données précédentes conduisent naturellement à penser que les phénomènes de phagocytose doivent jouer un rôle plus ou moins notable dans la fixation et la transformation des composés bismuthiques dont les propriétés antisypilitiques remarquables ont été établies par Sazerac et Levaditi. Sur ces données, Sazerac et Vaurs (1) ont effectué une série de recherches que nous exposerons et qui ont servi de point de départ à notre travail.

Les sels de bismuth solubles ou insolubles, employés dans le traitement de la syphilis, sont injectés, les uns en solution aqueuse, les autres en suspension dans un liquide approprié (huile ou solution isotonique). Dans ce dernier cas, en particulier, on doit se demander quel est le mécanisme de la diffusion du médicament dans l'organisme, phase préliminaire de son action thérapeutique. A la lumière des résultats déjà acquis, concernant la fixation des médicaments par les globules blancs, il semble naturel d'évoquer l'intervention de la phagocytose lorsqu'il s'agit d'expliquer la solubilisation du composé bismuthique et son transport jusqu'aux régions infectées par le tréponème. A ce sujet, les faits relatifs à l'action des phagocytes sur les composés mercuriels insolubles sont particulièrement suggestifs. Aussi bien, certains auteurs ont-ils rapporté quelques observations concernant le rôle des globules blancs au cours de la résorption du bismuth dans l'économie.

(1) SAZERAC et VAURS : Mémoire préliminaire. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 91, 1924, p. 43⁰, et *Annales de l'Institut Pasteur*, 1925, p. 83.

Déjà, avant l'introduction de ce médicament dans le traitement de la syphilis, Zollinger (1), ayant maintenu à la température de 40-44° un mélange de pus et de sous-nitrate de bismuth, a constaté que les leucocytes, séparés après centrifugation, contenaient du bismuth.

A la suite d'une injection intramusculaire de tartro-bismuthate de K et de Na chez le lapin, Müller (2), examinant les tissus voisins de la région injectée, a pu voir que les veinules étaient entourées de leucocytes et de cellules plasmatiques. De plus, il a observé une inflammation aiguë des vaisseaux dans le tissu cellulaire sous-cutané. De ses observations, cet auteur conclut que les globules blancs doivent jouer un rôle notable au cours de la résorption du bismuth par l'organisme.

Nous avons eu l'occasion d'observer un cas remarquable d'englobement du bismuth par les leucocytes chez un chien qui avait reçu une injection de 200 grammes de bismuth précipité dans le muscle de la cuisse. Quelques jours après l'injection, la réaction leucocytaire était d'une grande intensité, à tel point que l'amas des globules blancs s'écoulait par l'orifice d'entrée de l'aiguille, sous la forme d'un liquide épais et noirâtre. L'examen au microscope montra que ce liquide renfermait un grand nombre de phagocytes chargés de bismuth et des particules encore libres du métal. On n'y rencontrait point de microbes de la suppuration. Il s'agissait donc d'un écoulement leucocytaire aseptique, dû à une mobilisation des phagocytes particulièrement active, provoquée par l'introduction du bismuth au sein des tissus.

Dans le but de reconnaître l'importance des phénomènes de phagocytose au cours de la mise en œuvre des propriétés spécifiques du bismuth, nous avons songé à examiner quelles peuvent être les réactions des cellules migratrices vis-à-vis des composés bismuthiques introduits dans la cavité péritonéale.

Dans ces conditions, en effet, l'observation du processus phagocytaire est singulièrement facilitée par suite de l'absence presque totale, au sein du liquide péritonéal, de cellules autres

(1) ZOLLINGER. *Beiträge für klin. Chirurg.*, Tübingen, 27.

(2) MÜLLER. *Münch. med. Woch.*, 1922, p. 547 et 1369.

que des phagocytes. Nous avons étudié d'abord à ce point de vue les effets produits par l'injection de bismuth précipité à l'état de division extrême dans le péritoine du cobaye, du rat et du lapin. Nos observations ont porté d'une part sur les modifications du liquide péritonéal, d'autre part sur la localisation dans la cavité péritonéale des composés bismuthiques injectés.

Observations concernant le liquide péritonéal.

Lorsqu'on injecte une suspension aqueuse de bismuth dans la cavité péritonéale du cobaye, on observe quinze à trente minutes déjà après l'injection un englobement actif des particules de métal par les phagocytes. Ce sont surtout les gros mononucléaires qui se montrent chargés de granulations noires sur la nature desquelles il est impossible de se méprendre. En même temps, on note la présence de nombreux dépôts de granulations identiques dans la masse du liquide.

La phagocytose augmente d'intensité avec le temps, le nombre des leucocytes s'accroît rapidement, au point d'atteindre 150.000 et 200.000 par millimètre cube, deux à trois jours après l'injection. En même temps, le liquide péritonéal se raréfie et devient crémeux. Puis, le phénomène d'englobement du bismuth diminue d'intensité. Les granulations noires intra-leucocytaires deviennent plus rares et sont surtout réparties sur la périphérie interne de la cellule. Il semble que l'on assiste à une transformation intraleucocytaire des particules de métal, qui aboutirait à la formation d'une substance soluble, probablement déversée par la suite dans le milieu externe. Au bout de huit à dix jours, à la dose de 0 gr. 050 par kilogramme non toxique pour le cobaye, la phagocytose paraît terminée et le nombre de leucocytes redevient normal. Ces phénomènes semblent analogues à ceux qui ont été observés par Besredka en ce qui concerne le sulfure d'arsenic. La seule différence notable réside en ce que la phase d'hypoleucocytose a été beaucoup moins intense et surtout beaucoup plus courte, sans doute à cause de la moindre toxicité de notre produit, et surtout de son insolubilité presque absolue.

Voici maintenant le détail des observations au cours d'une expérience :

Un cobaye pesant 300 grammes reçoit en injection intrapéritonéale 0 c. c. 5 d'une suspension aqueuse de bismuth à 2 p. 100, soit environ 0 gr. 033 de métal. Trente minutes après, prélèvement de liquide péritonéal. Un certain nombre de phagocytes renferment déjà des granulations de bismuth.

Au bout de deux heures, la phagocytose est active. Le nombre des phagocytes par millimètre cube est alors de 13.000.

Après douze heures, la phagocytose est tout à fait intense et le liquide péritonéal renferme 55.000 globules par millimètre cube.

Après vingt heures, le nombre s'élève à 134.000.

Après trente-six heures, on note 150.000 phagocytes.

Le liquide péritonéal devient épais et crémeux. La phagocytose est toujours active et on note encore des dépôts de bismuth dans le liquide.

Après trois jours, le nombre des globules blancs par millimètre cube est de 200.000. L'englobement des particules de bismuth est toujours actif.

Les quatrième et cinquième jours, le processus reste à peu près stationnaire.

Le sixième jour, le nombre des phagocytes renfermant du bismuth est moins considérable et les amas intraleucocytaires sont plus clairsemés.

Du septième au huitième jour, on observe la disparition graduelle du bismuth contenu dans les phagocytes.

Du huitième au dixième jour, la disparition est totale. La phagocytose prend fin et le nombre des phagocytes redevient normal.

Nous avons répété maintes fois les injections de bismuth dans la cavité péritonéale du cobaye et les résultats obtenus concordaient toujours entre eux.

Chez le rat, l'injection de bismuth dans la cavité péritonéale donne lieu à des observations très analogues à celles que nous avons faites pour le cobaye.

Chez le lapin, nous avons également noté des résultats voisins, mais la période de phagocytose semble plus courte. Elle nous a paru terminée, en général, après cinq ou six jours.

Observations concernant la localisation des particules bismuthiques dans la cavité péritonéale.

Nous avons mis parallèlement en expérience deux séries de cobayes, les uns fournissant à intervalles déterminés du liquide péritonéal, les autres destinés à être sacrifiés dans des délais correspondants ; nous obtenions de cette façon le tableau des

modifications subies simultanément par le liquide d'une part, d'autre part par les parois de la cavité péritonéale et les organes qu'elle contient.

ÉPIPLOON.

Une heure après l'injection, l'épiploon est déjà complètement rétracté le long de son insertion stomacale, au point de donner, dans certains cas, l'aspect d'une véritable ceinture noire appliquée sur l'estomac le long de sa grande courbure. Entre les replis ainsi constitués, il est aisé de voir à l'œil nu, mieux encore à la loupe, des traînées gris noirâtre constituées par les granulations bismuthiques.

Certains auteurs (Cornil et Milian, Heger) ont mis en relief le rôle de balai que jouerait l'épiploon dans la cavité abdominale, recueillant toutes les particules qui y flottent et les immobilisant dans ses replis pour rendre plus aisé le rôle des phagocytes. L'englobement se montre en effet à ce niveau très actif et remarquablement précoce. En examinant de très près ce qui se passe, on constate que, dès une à deux heures après l'injection, la plus grande partie des grains bismuthiques sont déjà agglomérés dans les replis épiploïques, et le tissu fenêtré de l'épiploon, qui normalement est assez peu riche en leucocytes, s'en montre très vite bourré. Les petits vaisseaux lymphatiques qui accompagnent les vaisseaux sanguins sont distendus par l'afflux des globules blancs. Au travers de leur paroi s'effectue une diapédèse tellement active que l'on peut voir chez un animal sacrifié, deux heures environ après l'injection, les amas de grains bismuthiques entourés d'une véritable gangue de leucocytes (polynucléaires pour la plupart).

Le tableau ne change guère dans les deux ou trois heures qui suivent, sauf à augmenter considérablement d'intensité, au point que par endroits on voit, en étalant rapidement sur lame l'épiploon d'un animal qui vient d'être sacrifié, le tissu épiploïque, même en dehors des énormes amas de globules blancs qui entourent les agrégats bismuthiques, disparaître sous un véritable tapis de leucocytes.

Au bout de six à dix heures, délai comme on le voit très variable d'un animal à l'autre, la phagocytose au niveau de l'épiploon va entrer dans sa véritable phase, nous ne dirons

pas d'activité, mais plutôt d'efficacité. Si, jusqu'à présent, nous avons vu le nombre de leucocytes augmenter d'une façon rapide et continuelle, les phénomènes d'englobement sont restés malgré tout assez rares. Il ne faut pas oublier en effet que le véritable agent de la phagocytose des particules étrangères est le leucocyte mononucléaire, appelé plus significativement macrophage; or, ce n'est, on le sait, qu'après plusieurs heures qu'il entre en scène.

On voit alors ces gros éléments sortir par diapédèse, non pas des capillaires sanguins, mais des vaisseaux lymphatiques; ils chargent leur protoplasma des fines granulations bismuthiques adhérentes à la surface de l'épiploon, et certains peuvent en être tellement bourrés qu'ils ne se présentent plus que sous l'aspect de masses absolument noires. Au bout d'une dizaine d'heures on ne rencontre plus guère dans la majorité des cas de granulations bismuthiques isolées à la surface de l'épiploon. Quant aux agrégats, tout se passe comme si les polynucléaires, qui au début les entouraient, cherchaient maintenant à les disloquer pour faciliter leur capture par les macrophages. De jour en jour ces agrégats ainsi attaqués diminuent de volume. A partir du huitième jour, ils sont devenus rares et très peu importants. En général, on n'en trouve plus au douzième jour. Il nous est arrivé cependant d'en rencontrer un ou deux chez des cobayes sacrifiés trente jours après l'injection. Quoi qu'il en soit, l'intensité de la phagocytose nous a toujours semblé la même, au bout d'un même temps, dans le liquide péritonéal d'une part, sur l'épiploon d'autre part. Aussi, sommes-nous portés à croire, avec Ricoux (1), que le véritable terrain de la bataille phagocytaire est au niveau de l'épiploon; les phagocytes en activité que l'on recueille lors des examens de liquide péritonéal seraient tombés de l'épiploon une fois l'acte d'englobement accompli.

AUTRES LOCALISATIONS.

Il est constant d'observer chez le cobaye mâle un important dépôt de conglomerats bismuthiques sur la séreuse qui revêt le *musculus testis*.

(1) RICOUX. *Thèse Paris*, 1898.

De même, on observe aussi quelques particules bismuthiques sur le mésentère, mais elles y sont toujours en très petit nombre. Une autre localisation fréquente est celle que l'on peut noter au niveau de la paroi abdominale antérieure, région particulièrement riche en petits organes lymphoïdes, dont Ricoux a montré le rôle actif dans la phagocytose des particules inertes. Il faut noter toutefois que si l'animal est maintenu sur le dos après l'injection, les dépôts à ce niveau sont incomparablement plus rares et moins abondants.

En ce qui concerne la cause de la localisation nettement prédominante des particules bismuthiques sur l'épiploon, Launoy fait observer avec juste raison que l'on peut difficilement l'attribuer au « balayage épiploïque » de certains auteurs.

En effet, on observe souvent un abondant dépôt de ces granulations sur l'épiploon gastro-hépatique, gastro-splénique, et même sur le ligament suspenseur du foie, tous organes à peu près fixes, qui n'ont pas comme le grand épiploon la possibilité d'aller au-devant des particules étrangères flottant dans le liquide péritonéal.

De récentes expériences de Sanarelli (1) permettent d'ailleurs de donner de ce phénomène une explication beaucoup plus plausible. Cet auteur a mis en lumière le rôle attractif de l'épiploon, chargé d'électricité positive sur le platine, chargé dans l'eau d'électricité négative. La même cause produit sans doute sur le bismuth métal un effet semblable.

Observations concernant le sort des particules métalliques phagocytées.

La description que nous venons de donner de la phagocytose intrapéritonéale en ce qui concerne les particules de bismuth métal ne diffère en rien de celle fournie par les auteurs qui ont pratiqué dans les mêmes conditions des injections de poudres inertes : encre de chine, sépia, carmin, provoquent la même hyperleucocytose et subissent le même englobement. Une question se pose, évidemment pleine d'intérêt : que devien-

(1) SANARELLI : Galvanotropisme microbien dans l'organisme animal. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1926, p. 161.

nent les phagocytes porteurs de grains métalliques? Malgré de nombreuses observations variant de quelques minutes à plusieurs jours, nous n'avons jamais pu déceler de façon certaine la présence de particules bismuthiques dans les leucocytes du sang circulant. Frottis de sang, frottis d'organes, coupes de foie, de rein, de poumon, exécutés à de multiples reprises ne nous ont jamais non plus permis d'observer des leucocytes chargés des granulations noires caractéristiques. Nos recherches sur ce point sont entièrement conformes à celles de Ricoux qui, à la suite d'injections de carmin dans la cavité péritonéale, a dû renoncer, malgré une grande quantité de frottis et de coupes portant sur les organes les plus différents, à observer des inclusions intraphagocytaires ailleurs qu'au lieu de l'injection.

Afin de pouvoir examiner plus commodément à chaque fois un plus grand nombre de leucocytes, nous avons cherché à provoquer en un point autre que dans la cavité péritonéale un appel de ces leucocytes. Devant les difficultés que l'on éprouve à déterminer chez les petits animaux de laboratoire la formation d'abcès de fixation, nous avons songé à produire des abcès par injection de cultures microbiennes.

Voici le détail d'une de nos expériences :

Un cobaye pesant 380 grammes reçoit en injection intrapéritonéale 0 c. c. 5 d'une suspension aqueuse de bismuth métal à 2 p. 100. Douze heures après on lui injecte dans la peau du dos 0 c. c. 75 d'une culture de vingt-quatre heures, en bouillon, d'un *staphylococcus aureus* (isolé d'un anthrax).

Après vingt-quatre heures, œdème assez étendu autour du point d'inoculation. Après trois jours, formation d'une escarre qui, détachée, laisse surgir environ 1 cent. cube d'un pus crémeux. On pratique sur ce pus de nombreux examens, tant en goutte pendante après dilution, qu'en frottis légèrement colorés au bleu de méthylène, sans qu'il soit possible une seule fois de déceler la présence des granulations noires caractéristiques dans les leucocytes.

Cependant, étant donné que les globules blancs qui constituent le pus d'abcès ainsi déterminés sont en immense majorité des polynucléaires, alors que les vecteurs de particules métalliques sont presque toujours, nous l'avons fait remarquer, des mononucléaires macrophages, nous avons cherché à provoquer un afflux de ces derniers éléments après les avoir préalablement mis à même d'exercer ailleurs leur activité phagocytaire vis-à-vis des granulations bismuthiques.

Les expériences de Müller (1) et les nôtres en collaboration

(1) MÜLLER. *Loco citato*.

avec Sazerac (1) ont démontré que, lors d'une injection intramusculaire de bismuth métal, l'englobement par les leucocytes est très actif. Si donc l'on arrive à provoquer à ce moment une mobilisation active dans tout l'organisme des leucocytes macrophages, on peut espérer pouvoir observer ailleurs que sur le lieu d'injection des phagocytes vecteurs de particules métalliques.

Voici le détail d'une des expériences faites à ce sujet :

Un cobaye pesant 425 grammes reçoit dans les muscles lombaires 0 c. c. 5 d'une suspension aqueuse à 2 p. 100 de bismuth métal.

Après vingt-quatre heures, injection de 3 cent. cubes d'une solution de pilocarpine à 0 gr. 005 p. 100.

Deux heures après, le nombre de leucocytes péritonéaux a déjà augmenté considérablement, cette augmentation portant surtout sur les macrophages, mais aucun ne présente de granulations intraprotoplasmiques. Cet examen poursuivi d'heure en heure donne toujours le même résultat négatif.

L'expérience répétée maintes fois en faisant varier les uns par rapport aux autres, aussi bien les délais séparant les injections que les quantités injectées et le moment des prises d'essai du liquide péritonéal ne nous a jamais permis de déceler, dans le protoplasma leucocytaire, les granulations caractéristiques.

*
* *

Les données précédentes concernant l'absorption et la transformation probable du bismuth par les phagocytes du liquide péritonéal nous ont conduit tout naturellement, pour apprécier la portée des phénomènes observés, à essayer le traitement des spirochétoses et des trypanosomiasés par la voie des injections intrapéritonéales. Les résultats positifs qui pourraient être obtenus de cette manière conduiraient, en effet, à entrevoir plus nettement le rôle que doit jouer la phagocytose au cours de l'action du bismuth sur ces maladies. A en juger d'après l'intensité du processus phagocytaire, il semble probable que la totalité ou, tout au moins, la plus grande partie du métal injecté dans le péritoine passe à l'intérieur des cellules migratrices avant de pouvoir être transporté dans les différentes

(1) SAZERAC et VAURS. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1925, p. 86.

régions de l'organisme. Dès lors que l'on observera, dans ces conditions, un effet thérapeutique certain, on ne pourra manquer de conclure à l'importance de la phase phagocytaire dans le processus de guérison.

Nos premières expériences ont porté, à ce sujet, d'une part sur la trypanosomiase du Nagana, et, d'autre part, sur la spirochétose spontanée du lapin.

Action des injections intrapéritonéales de bismuth sur la trypanosomiase du Nagana.

Nous avons d'abord choisi le rat comme sujet d'expérience, parce que, chez cette espèce animale, l'infection par le *Trypanosoma brucei* est particulièrement aiguë, ce qui augmente la valeur des résultats obtenus.

Le virus dont nous nous sommes servis, et qui nous a été obligeamment fourni par M. Mesnil, tue infailliblement le rat en quatre à cinq jours.

Notons ici que l'action curative du bismuth vis-à-vis des trypanosomiasés est moins énergique que pour certaines spirochétoses (syphilis et spirochétose spontanée du lapin), ainsi qu'il résulte des recherches de Sazerac et Levaditi (1); il n'a pas été possible, jusqu'à présent, de faire disparaître définitivement les trypanosomes du sang d'un animal, à l'aide des sels de bismuth, alors que les lésions produites expérimentalement avec le tréponème de la syphilis ou le *Spirochæta cuniculi* sont guéries rapidement et d'une façon radicale par les injections de bismuth. Il convient donc d'insister sur ce fait que les guérisons enregistrées, après un traitement bismuthé, en ce qui concerne les trypanosomiasés animales, ne sont que temporaires.

Chez le rat, au troisième jour de l'infection, et alors que le sang renferme de nombreux trypanosomes, la dose de 0 gr. 200 de Bi par kilogramme, en injection intrapéritonéale, fait disparaître les trypanosomes de la circulation périphérique dans le délai de vingt-quatre à quarante-huit heures. Une rechute se produit après une durée, assez variable, de quatre

(1) SAZERAC ET LEVADITI. *C. R. Acad. des Sciences*, 172, p. 1391.

à dix jours, suivant la gravité de la maladie, et les trypanosomes disparaissent de nouveau à la suite d'une nouvelle injection. En continuant à traiter ainsi l'animal, on peut obtenir une survie de quinze jours à un mois environ, par rapport aux témoins.

Voici, à ce sujet, la description détaillée d'une de nos expériences :

Six rats, pesant chacun 120 grammes environ, sont inoculés, le 17 mai, avec des quantités égales de sang renfermant de nombreux trypanosomes, prélevés sur un rat malade. Trois de ces animaux servent de témoins. Les trois autres sont traités par le bismuth, en injections intrapéritonéales, après l'apparition des trypanosomes dans le sang.

Les trois témoins meurent respectivement quatre jours, cinq jours et quatre jours après l'inoculation, alors que leur sang est peuplé de très nombreux trypanosomes.

En ce qui concerne les animaux traités par le bismuth, voici le relevé des observations :

Rat n° 1. — Le 19 mai : apparition des trypanosomes dans le sang. Injection intrapéritonéale de 0 gr. 020 de bismuth métal en suspension aqueuse.

Le 22 mai : disparition totale des parasites.

Le 26 mai : réapparition des trypanosomes dans le sang. Nouvelle injection intrapéritonéale de bismuth.

Le 2 juin : nouvelle réapparition des protozoaires. Injection intrapéritonéale de 0 gr. 020 de bismuth.

Le 4 juin : le sang ne renferme pas de trypanosomes.

Le 6 juin : nouvelle rechute. Nouvelle injection intrapéritonéale de 0 gr. 020 de bismuth.

Le 8 juin : 4 à 2 trypanosomes par champ.

Le 10 juin : l'animal meurt.

Survie de dix-neuf jours par rapport aux témoins.

Rat n° 2. — Le 19 mai : les trypanosomes apparaissent dans le sang. Injection intrapéritonéale de 0 gr. 020 de bismuth en suspension aqueuse.

Le 24 mai : le sang ne renferme plus de trypanosomes.

Le 30 mai : les trypanosomes apparaissent de nouveau dans le sang. Injection intrapéritonéale de 0 gr. 020 de bismuth.

Le 12 juin, l'animal meurt.

Survie de vingt et un jours par rapport aux témoins.

Rat n° 3. — Le 20 mai : le sang renferme de nombreux trypanosomes. Injection intrapéritonéale de 0 gr. 020 de bismuth en solution aqueuse.

Le 22 mai : disparition totale des parasites.

Le 24 mai : réapparition des trypanosomes dans le sang. Injection intrapéritonéale : 0 gr. 020 de bismuth.

Le 31 mai : le sang ne renferme plus de parasites.

Le 2 juin : Nouvelle rechute, suivie d'une injection intrapéritonéale : 0 gr. 020 de bismuth.

Le 5 juin : nouvelle disparition des parasites.

Le 13 juin : le sang renferme des trypanosomes. Injection intrapéritonéale : 0 gr. 020 de bismuth.

Le 17 juin : disparition des parasites.

Le 21 juin : l'animal meurt. A cette date, son sang ne renferme pas de trypanosomes.

Survie de vingt-neuf jours par rapport aux témoins.

Après l'examen de ces observations, insistons encore sur ce fait que le traitement des trypanosomiasés par le bismuth n'aboutit, en général, qu'à des guérisons passagères. Néanmoins, les résultats que nous venons d'enregistrer peuvent être considérés comme nettement démonstratifs en ce qui concerne l'action des injections intrapéritonéales de bismuth sur les trypanosomes.

En traitant comparativement, par voie intramusculaire, avec les mêmes doses de bismuth, les rats infectés par le même virus, nous avons obtenu des résultats très voisins des précédents.

On peut conclure de ces expériences comparatives que le bismuth introduit au sein du liquide péritonéal, ne refermant que des phagocytes comme éléments cellulaires, agit sur les trypanosomes aussi bien que lorsqu'il est injecté au sein des tissus où se rencontrent diverses espèces de cellules.

Action des injections intrapéritonéales de bismuth sur la spirochétose spontanée du lapin.

Nos essais concernant la spirochétose spontanée du lapin ont été effectués sur des animaux porteurs de lésions en pleine évolution et renfermant de nombreux spirochètes.

Dans ces conditions, à la dose de 0 gr. 020 à 0 gr. 030 par kilogramme, les injections intrapéritonéales de bismuth font disparaître les parasites en quarante-huit heures et guérissent complètement les lésions en cinq à six jours.

Nous donnons ci-dessous les protocoles de quelques observations :

PREMIÈRE OBSERVATION. — Lapin D/86. Poids : 2.110 grammes. Porteur de lésions préputiales, renfermant de nombreux spirochètes. Le 25 mai, reçoit 0 gr. 030 de bismuth en injection intrapéritonéale. Le 27 mai, les spirochètes ont disparu. Le 28 mai, les lésions sont très améliorées et, le 1^{er} juin, elles sont complètement guéries.

Poids : 2.075 grammes. Pas de récidence.

DEUXIÈME OBSERVATION. — Lapin C/14. Poids : 2.500 grammes. Porteur de lésions préputiales, renfermant de nombreux spirochètes.

Le 18 juin : reçoit 0 gr. 020 de bismuth par kilogramme en injection intrapéritonéale.

Le 20 juin : disparition des spirochètes.

Le 22 juin : les lésions sont très améliorées et, le 25 juin, leur cicatrisation est complète.

Poids : 2.450 grammes. Pas de récurrence.

TROISIÈME OBSERVATION. — Lapin C/34. Poids : 2.420 grammes. Porteur de lésions préputiales renfermant de nombreux spirochètes.

Le 23 juin : reçoit 0 gr. 025 de bismuth en injection intrapéritonéale.

Le 25 juin : les spirochètes ont disparu.

Le 26 juin : les lésions sont notablement améliorées.

Le 29 juin : guérison complète des lésions.

Poids : 2 330 grammes. Pas de récurrence.

Nous avons répété ces expériences à plusieurs reprises, dans les mêmes conditions; elles ont toujours donné lieu à des observations comparables à celles qui viennent d'être décrites.

D'autre part, nous avons exécuté des essais comparatifs en traitant des lapins atteints de spirochètose spontanée par des injections intramusculaires de bismuth, à des doses équivalentes à celles qui viennent d'être indiquées. Les résultats ainsi obtenus furent semblables à ceux que nous avons observés à la suite des injections intrapéritonéales.

Des constatations précédentes, il résulte que le bismuth introduit dans la cavité péritonéale agit, sur le *Spirochæta cuniculi*, aussi efficacement que lorsque l'injection est pratiquée dans le muscle, c'est-à-dire dans un milieu complexe au point de vue histologique.

EXPÉRIENCES SUR L'INCLUSION INTRAPÉRITONÉALE DU BISMUTH INSOLUBLE EN SACS DE COLLODION.

L'examen des observations que nous venons d'exposer montre que la phagocytose joue un rôle notable dans le mécanisme d'action des composés bismuthiques insolubles sur les trypanosomiasés et les spirochétoses.

Jusqu'à quel point maintenant pouvons-nous préjuger de la portée exacte des phénomènes observés?

Il nous a paru nécessaire, pour essayer de déterminer la part de la phagocytose dans le métabolisme du bismuth, d'introduire le métal dans l'organisme en le mettant à l'abri de l'action directe des phagocytes. Nous disons action directe parce qu'on sait depuis longtemps qu'il ne faut pas limiter le rôle des leucocytes à un simple acte d'englobement ou même à la digestion intracellulaire.

En effet, les globules blancs sécrètent une grande quantité de ferments solubles. S'il nous est permis, grâce à un artifice expérimental de faire baigner *in vivo* du bismuth insoluble dans les humeurs, tout en le protégeant contre l'attaque directe des leucocytes (englobement), il ne nous est pas possible de le mettre à l'abri de ces mêmes ferments solubles. Le dispositif expérimental que nous avons employé est celui, d'ailleurs classique, qui consiste à remplir avec la suspension à étudier de petits sacs de collodion. Inclus dans la cavité péritonéale, ces sacs sont imperméables aux leucocytes, tout en permettant les échanges de liquides à travers leur paroi.

PRÉPARATION DES SACS.

Le plus souvent, on utilise des petits sacs de collodion en forme de doigt de gant, dont l'extrémité ouverte est ligaturée sur le collet d'un court tube de verre étiré à son autre extrémité, laquelle est fermée à la lampe après remplissage.

A l'usage, nous avons reconnu que ce dispositif présente un inconvénient sérieux. Par suite des déplacements auxquels il est soumis et des efforts qu'il doit supporter, surtout chez les gros animaux, il arrive trop fréquemment que le sac de collo-

dion se coude et présente une fissure au point de flexion. Pour éviter ces flexions, nous avons monté nos sacs sur une armature rigide constituée tout simplement par un tube à essais de petit diamètre (6 à 12 millimètres suivant les circonstances), dont la paroi était percée d'ouvertures aussi larges et aussi rapprochées que possible. Ce tube se terminait par un collet sur lequel le sac était fixé par une ligature au fil de soie, recouverte de collodion.

Quant aux sacs de collo lion eux-mêmes, ils étaient confectionnés en recouvrant des moules de taille appropriée, de deux couches de collodion Poulenc à 6 p. 100.

CONTRÔLE DES SACS.

Une fois le sac retiré de la cavité péritonéale, on l'ouvre en coupant la pointe de verre effilée; on le vide de son contenu dans lequel on vérifie soigneusement au microscope l'absence de leucocytes qui auraient pu pénétrer par effraction. En outre, on s'assure, en insufflant très fortement de l'air dans le sac immergé sous l'eau, qu'aucune bulle ne s'échappe, ce qui constitue un deuxième contrôle d'étanchéité.

TECHNIQUE DE LEUR EMPLOI.

Ces sacs, garnis de la suspension de bismuth, sont stérilisés à 115° pendant quinze minutes, puis insérés aseptiquement dans la cavité péritonéale d'animaux totalement anesthésiés. On suture et on applique une couche de collodion en guise de pansement. Nous avons constaté chez le lapin une anurie post-opératoire de vingt-quatre heures.

Dans nos expériences sur la chèvre, nous avons abordé la cavité abdominale par la voie lombaire, l'animal ayant été préalablement soumis au jeûne pendant vingt-quatre heures au moins. Sans ces précautions, la distension de la panse de ce ruminant rend très difficile l'abord de la cavité péritonéale et surtout la suture du péritoine.

Cette technique nous a permis d'éviter toute mortalité opératoire au cours de nos 37 interventions.

Étude de l'action thérapeutique exercée par le bismuth dans ces conditions expérimentales.

ESSAIS SUR LA TRYPANOSOMIASE DU RAT.

Nos essais ont tout d'abord porté sur des rats trypanosomiés, infectés à l'aide de ce même virus qui nous avait servi dans les expériences précédemment décrites, et qui, rappelons-le, tue l'animal en cinq ou six jours.

Voici le détail d'une de ces expériences :

Rat blanc, pesant 90 grammes.

28 septembre : inoculation sous-cutanée d'une goutte de sang de rat renfermant de nombreux trypanosomes.

30 septembre : trypanosomes, = +. Inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion renfermant 5 centigrammes de bismuth métal en suspension aqueuse.

1^{er} octobre : trypanosomes, ++.

2 octobre : trypanosomes, +++.

3 octobre : trypanosomes, ++++.

4 octobre : mort, le même jour que le témoin.

La dose de métal était, on le voit, bien supérieure à celle (0 gr. 02) qui, en injection intrapéritonéale directe, eût suffi à amener une amélioration notable.

Voyant dans la lenteur probable de la dialyse du bismuth à travers la membrane du collodion une cause d'insuccès dans le traitement d'une affection à évolution aussi rapide, nous avons répété cette expérience de nombreuses fois, l'inclusion du sac précédant de deux à dix jours l'inoculation du virus. Malgré cela, l'évolution de la maladie n'a jamais été influencée, et la mort des onze animaux traités a toujours coïncidé avec celle des témoins.

ESSAIS THÉRAPEUTIQUES SUR LA TRYPANOSOMIASE DU COBAYE.

La rapidité de l'infection chez le rat pouvant expliquer ces insuccès, nous avons songé à expérimenter sur le cobaye, chez qui la maladie évolue beaucoup plus lentement. Avec le virus dont nous nous sommes servi, l'apparition des trypanosomes

dans le sang a lieu seulement vers le cinquième jour. Le nombre des parasites augmente rapidement dans les deux ou trois jours qui suivent, puis décroît; ils disparaissent généralement vers le dixième jour. Une rechute a lieu deux semaines après, qui détermine la mort au bout de trois ou quatre jours pendant lesquels les trypanosomes pullulent dans le sang circulant.

La durée moyenne de la maladie est donc au total de vingt-six à vingt-huit jours.

Donnons le détail d'une expérience :

Cobaye A/12, pesant 420 grammes.

25 septembre : inoculation sous-cutanée de quelques gouttes de sang de cobaye contenant de très nombreux trypanosomes.

30 septembre : trypanosomes, = +. Inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion contenant 0 gr. 1 de bismuth métal.

1^{er} octobre : trypanosomes, + +.

2 octobre : trypanosomes, + + +.

3 octobre : trypanosomes, + + +.

4 octobre : trypanosomes, + +.

5 octobre : trypanosomes, 0.

12 octobre : trypanosomes, 0.

15 octobre : trypanosomes, 0.

21 octobre : trypanosomes, +.

22 octobre : trypanosomes, + + +.

25 octobre : trypanosomes, + + + +.

26 octobre : trypanosomes, mort.

L'action thérapeutique est donc nulle malgré la dose élevée, cinq fois supérieure à celle qui, en injection intrapéritonéale directe, eût amené la disparition temporaire des trypanosomes dans le sang dès le lendemain ou le surlendemain de l'injection.

Comme dans les expériences précédentes sur le rat, nous avons fait varier l'une par rapport à l'autre les dates d'inoculation du virus et d'inclusion du sac de bismuth. Dans deux expériences, par exemple, le métal a été introduit dans le péritoine quinze jours avant l'inoculation. Le résultat n'a pas été meilleur, les animaux en expériences ayant succombé l'un au bout de ving-sept jours, l'autre au bout de vingt-neuf, c'est-à-dire sensiblement en même temps que les témoins.

ESSAIS THÉRAPEUTIQUES SUR LA SPIROCHÉTOSE SPONTANÉE DU LAPIN.

Ce virus détermine, en général, au niveau du prépuce et des plis anaux, l'apparition d'une lésion croûteuse où les spirochètes pullulent pendant trois semaines environ; puis les parasites disparaissent, les croûtes tombent, et la lésion se répare rapidement. Ce virus que nous entretenons depuis des années provoque une maladie remarquablement constante dans sa durée et son évolution, et peut être considéré comme l'un des meilleurs terrains d'expérimentation dans l'étude des médicaments antisymphilitiques (1).

Lapin C/13-14, pesant 3 kilogrammes.

Inoculé le 10 juillet par scarification préputiale au moyen d'une lancette chargée de sérosité prélevée au niveau d'une lésion très riche en spirochètes.

30 août : lésion croûteuse recouvrant le prépuce et l'anus. Une fois la croûte enlevée, apparaît une zone érosive qui saigne au moindre contact; la sérosité recueillie et examinée à l'ultra-microscope se montre assez riche en spirochètes : 3 à 4 par champ (objectif 8, oculaire 2).

Ce même jour, inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion contenant 0 gr. 35 de bismuth métal.

2 septembre : lésion inchangée, spirochètes, +.

4 septembre : lésion inchangée, spirochètes, +.

6 septembre : lésion inchangée, spirochètes, +.

8 septembre : lésion inchangée, spirochètes, +.

18 septembre : lésion inchangée, spirochètes, +.

25 septembre : lésion inchangée, spirochètes, +.

2 octobre : la lésion a diminué d'étendue; elle semble cicatrisée au niveau de l'anus, mais l'examen ultra-microscopique montre la présence de nombreux spirochètes dans la sérosité recueillie par grattage au niveau du prépuce.

10 octobre : spirochètes, +.

15 octobre : spirochètes, +.

Le témoin, inoculé le même jour, est guéri depuis le 11 octobre.

Or, les expériences de Sazerac et Vauris (2) ont établi que la dose de bismuth élément nécessaire pour obtenir la guérison des lésions en cinq à sept jours est de 1 centigramme par kilogramme. Cette fois encore, nous avons sans résultat employé une dose dix fois supérieure.

(1) SAZERAC et VAURS. *C. R. Soc. Biol.*, 30 juin 1928.

(2) SAZERAC et VAURS. *C. R. Soc. Biol.*, 99, p. 372.

Devant ces insuccès thérapeutiques constants, deux hypothèses viennent à l'esprit :

Ou bien le bismuth ne passe pas à travers le sac de collodion,

Ou bien il passe une quantité inférieure à la dose thérapeutique.

Avant de se rallier à la première hypothèse, il importait évidemment d'éliminer la seconde. C'est dans ce but que nous avons été conduit à rechercher le bismuth dans l'urine de nos animaux d'expérience.

On sait, en effet, surtout depuis les travaux très précis de Christiansen, Hevesy et Lomholdt, que :

« L'élimination du bismuth se fait surtout par l'urine, la quantité de bismuth qu'on y trouve est le double de celle qui passe dans les matières fécales : elle augmente au cours du traitement, ce qui n'apparaît pas aussi clairement pour les matières fécales (1) ».

Nous décrirons en détail notre méthode de recherches. Elle n'a certes pas la sensibilité des méthodes radiochimiques ou spectroscopiques, du moins présente-t-elle l'avantage de pouvoir être mise en œuvre dans n'importe quel laboratoire outillé pour les analyses courantes.

(1) CHRISTIANSEN, HEVESY et LOMHOLDT. *Loc. cit.*

RECHERCHE DU BISMUTH DANS LES LIQUIDES ORGANIQUES.

Les toxicologistes semblent avoir été les premiers à déceler et caractériser de petites quantités de bismuth dans l'organisme. Orfila, au cours d'une expertise, trouve ce métal dans le foie et la rate.

Federmayer en montre la présence dans les cendres du foie, de l'estomac, des os, de l'urine et même de quelques glandes. Ces recherches avaient à ce moment d'autant plus d'intérêt qu'on attribuait au métal une très notable toxicité que l'on a depuis rapportée à des impuretés, notamment à l'arsenic.

Un travail particulièrement intéressant à notre point de vue est celui de Steinfeld, qui recherche le bismuth dans l'urine à la suite de l'absorption de quantités croissantes de sous-nitrate de bismuth : les faibles doses lui donnent des résultats négatifs, les fortes doses des résultats positifs.

Dalché et Villejean effectuent des recherches plus précises : ils injectent à des chiens des quantités toxiques qui provoquent la mort des animaux, dosent le métal dans certains organes, et concluent que : « le bismuth tend à se localiser de préférence dans la rate et que l'élimination du poison se fait très activement, non seulement par le foie et le rein, mais aussi par les glandes salivaires, point de départ probable des stomatites ».

Puis, le bismuth étant entré rapidement dans la thérapeutique antisyphilitique, grâce aux travaux de Sazerac et Levaditi, les recherches toxicologiques et expérimentales se multiplient et les chiffres se précisent.

Müller (1) recherche le bismuth dans le cerveau, le foie, le rein d'enfants hérédo-syphilitiques morts au cours du traitement. Les quantités trouvées sont, pour 100 grammes de tissu frais : 0 gr. 0015 (en bismuth métal) dans le cerveau, 0 gr. 008 dans le foie et 0,005 dans le rein. Le même auteur donne pour l'urine les chiffres de 0 gr. 002 à 0 gr. 004 par litre.

Lemay et Jaloustre (2) ont décelé et dosé le métal dans le

(1) MULLER. *Centralblatt f. Haut. und Geschlechtskrank.*, 7, 1922, p. 6.

(2) LEMAY et JALOUSTRE. *C. R. Soc. Biol.*, 24 février 1923, p. 474.

cerveau de deux paralytiques généraux en cours de traitement, et donnent les résultats suivants : 0 gr. 0069 de bismuth métal pour 300 grammes de matière cérébrale, dans un cas, et 0,0048 dans l'autre.

Labat et Péry (1), au cours d'une expertise, obtiennent les résultats suivants : foie : 900 milligrammes par kilogramme ; rein : 20 milligrammes ; bile : 8 milligrammes par litre ; liquide céphalo-rachidien : traces.

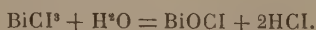
D'autres auteurs ont effectué des recherches qualitatives chez des malades traités par des sels de bismuth.

Ce sont : Pape (2) qui décèle le métal dans le foie et le liquide péritonéal ; Hunkel (3) qui montre sa présence dans le sang ; Démelin (4) qui le trouve dans le sang, la sueur, les larmes ; enfin M^{me} Cabouat (5) qui signale sa présence dans le liquide amniotique de femmes syphilitiques soignées au Néo-Trépol.

Caractères analytiques du bismuth.

Le bismuth forme une série de sels stables correspondant à l'oxyde de bismuth Bi_2O_3 .

1° Ces sels sont incolores et possèdent la propriété caractéristique d'être hydrolysés par un grand excès d'eau avec formation de sels basiques très peu solubles. Ainsi le chlorure de bismuth BiCl_3 en solution faiblement acide donne avec l'eau un précipité blanc d'oxychlorure de bismuth suivant la réaction :



L'oxychlorure obtenu est insoluble dans l'acide tartrique, ce qui le différencie des sels basiques d'antimoine qui prennent naissance dans les mêmes conditions.

Cette formation d'oxychlorure de bismuth est rendue beaucoup plus nette par l'addition à la solution bismuthique d'une

(1) LABAT et PÉRY. *Bull. de la Soc. de Pharmacie de Bordeaux*, n° 4, 1923.

(2) PAPE. *Klin. therap. Woch.*, n° 13, 1923.

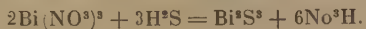
(3) HUNKEL. *Handb der Toxicologie*, 2, p. 225.

(4) DÉMELIN. *Thèse Paris*, 1922. Vanderperre, éditeur.

(5) M^{me} CABOUAT : « La vie universitaire ». *Thèse Paris*, 1922.

solution de chlorure d'ammonium. On voit alors se produire presque instantanément le précipité blanc d'oxychlorure, à condition que l'acidité de la solution ne soit pas excessive.

2° Les solutions de sel de bismuth sont précipitables par l'hydrogène sulfuré en milieu légèrement acide. On obtient un sulfure noir Bi_2S_3 , suivant la réaction :



Le sulfure de bismuth est insoluble dans les sulfures alcalins et dans les acides dilués. Il est soluble dans les acides concentrés et particulièrement dans l'acide nitrique.

3° L'ammoniaque et les hydrates alcalins donnent, avec les solutions de sels de bismuth, un précipité d'hydrate bismuthique insoluble dans un excès de réactif, par contre facilement soluble dans les acides.

Les carbonates alcalins, carbonate de soude et d'ammoniaque donnent avec les sels de bismuth un précipité blanc de carbonate basique de bismuth $\text{Bi}_2\text{O}_3\text{CO}_3$ insoluble dans un excès de réactif, se formant plus facilement à chaud.

4° *Réactions de réductions.* — I. Le chlorure stanneux donne avec les sels de bismuth un précipité noir de bismuth métal. Cette réaction se fait en milieu alcalin et possède une très grande sensibilité. Nous étudierons plus loin cette sensibilité et le degré de spécificité de cette réaction. Celle-ci a été employée par différents auteurs pour la recherche du bismuth dans l'urine.

Le réactif peut être préparé d'après la méthode de Denigès (1) ou plus simplement de la manière suivante :

On fait dissoudre au bain-marie, jusqu'à clarification complète de la solution, 10 grammes de chlorure stanneux pur dans 10 cent. cubes d'acide chlorhydrique pur. Le réactif est conservé dans un flacon bien bouché dans lequel on introduit quelques parcelles de feuille d'étain.

D'autres réducteurs ont également été proposés pour la recherche du bismuth dans ses solutions. Nous citerons :

II. Le glucose qui, dans les solutions alcalines d'un sel de

(1) DENIGÈS. *Précis de Chimie analytique*, 5^e édition, p. 48.

bismuth, donne un précipité gris-noir de bismuth métallique. C'est cette même réaction qui, sous le nom de réaction de Böttgel, est utilisée en clinique pour la recherche du glucose dans l'urine.

III. Le formol en solution alcaline donne également avec les sels bismuthiques un précipité pulvérulent de bismuth métallique. Cette réaction s'opère à chaud.

5° *Formation d'un iodure double. Réaction de Léger.* — Les sels de bismuth forment, avec le réactif de Léger, un précipité jaune orange soluble dans l'acétone (1) en donnant une coloration jaune orangé persistante. Cette réaction a été beaucoup employée dans ces dernières années pour les besoins de la clinique. Aubry (2) conseille de remplacer la cinchonine par la quinine, d'usage plus courant; cette substitution aurait de plus l'avantage d'augmenter notablement la sensibilité de la réaction.

Préparation du réactif. — Ce réactif s'altérant très rapidement, il est à conseiller de le conserver sous forme de deux solutions mères que l'on mélangera à parties égales au moment de l'emploi.

Solution A.

Iodure de potassium	4 gr.
Eau	100 gr.

Solution B.

Sulfate de quinine.	2 gr.
Eau	100 gr.

6° *Réaction microchimique.* — Nous avons utilisé la réaction décrite par Denigès en 1919 (3), et dont le mode d'application a été précisé par Labat et Péry (4). La solution à examiner est évaporée au bain-marie dans une petite capsule jusqu'à ce que

(1) LAPORTE (*Journal de Pharmacie et de Chimie*) utilise cette propriété pour effectuer un dosage colorimétrique à l'aide soit d'étalons fournis par des solutions titrées de bismuth, soit d'étalons au bichromate de potasse, qui, additionné d'une trace de permanganate, donne une teinte absolument comparable.

(2) AUBRY : Recherche du bismuth dans l'urine. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1922, p. 15.

(3) DENIGÈS : Sur un nouveau procédé pour déceler le bismuth dans une quelconque de ses combinaisons. *Bull. de la Soc. de Pharmacie de Bordeaux*, n° 1, 1919, p. 1.

(4) LABAT et PÉRY. *Loco citato*.

son volume soit réduit à quelques gouttes. On dépose une goutte de cette solution sur une lame porte-objet qui est laissée sur la plaque d'un bain-marie jusqu'à évaporation complète. On met une autre goutte très exactement sur l'emplacement de la première, on évapore à nouveau et ainsi de suite. Sur le résidu sec, on dépose ensuite une goutte d'acide chlorhydrique à 50 p. 100 et une goutte d'hexaméthylène tétramine à 5 p. 100. Si la solution à examiner contient du bismuth, il se forme des cristaux caractéristiques de chlorobismuthate d'hexaméthylène tétramine « incolores, très brillants, très réfringents, en hexaèdres, lamelles hexagonales, dodécaèdres ou octaèdres rhomboïdaux ».

Bien que cette réaction soit, d'après Dénigès, rigoureusement spécifique, elle présente dans son application quelques difficultés qui nous ont amené à l'abandonner : nos solutions de bismuth étant extrêmement diluées, il faut en évaporer plusieurs gouttes, ce qui demande assez longtemps. De plus, les cristaux que nous avons obtenus étant très rares et jamais très caractéristiques, il eût fallu pour les identifier à coup sûr un examen prolongé et un long entraînement.

Il conviendrait de citer encore les réactions radiochimiques qui ont donné, entre les mains de Christiansen, Hevesy et Lomholdt, les résultats que l'on sait et enfin la réaction spectrographique, précieuse par sa spécificité.

Recherche du bismuth dans l'organisme.

Cette recherche a été effectuée sur de l'urine, du pus et du sang. Il faut avant tout opérer dans des conditions convenables la destruction des matières organiques. Nous avons cependant retrouvé dans la littérature consultée à ce sujet des techniques dans lesquelles la recherche du bismuth était poursuivie directement sur l'urine sans aucun traitement préalable (citons en particulier les méthodes employées par Aubry, qui opère la recherche du métal dans l'urine, le liquide céphalo-rachidien, en y ajoutant simplement son réactif à la quinine ; par Ganasini qui met dans l'urine du réactif au chlorure stanneux).

Or, ces méthodes, qui peuvent rendre au clinicien certains

services en lui permettant de suivre *grosso modo* l'élimination urinaire du médicament chez des malades traités, ne sauraient trouver place dans un travail expérimental précis. Les causes d'erreur y sont en effet multiples. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce sujet. Disons dès maintenant que lorsqu'on ajoute du réactif de Léger directement dans une urine de lapin, urine beaucoup plus riche en éléments minéraux et organiques que celle de l'homme, on observe toujours un précipité. De même, la réaction au chlorure stanneux donne presque toujours des résultats douteux.

Destruction de la matière organique.

Nous nous sommes, après de nombreux tâtonnements, arrêté à la méthode sulfo-nitrique, que nous décrirons après les différentes autres techniques qui ont été proposées.

La première est la calcination pure et simple de l'urine après évaporation à extrait sec. On pourrait déjà reprocher à cette calcination de permettre la volatilisation de traces de bismuth. Cependant, avec certaines précautions, elle serait encore praticable sur l'urine humaine, peu chargée en éléments fixes. Mais avec l'urine animale, celle des lapins en particulier, l'évaporation est excessivement lente et les opérations se prolongent indéfiniment.

Au moment de la reprise des cendres par l'eau, on se trouve en présence d'une très forte proportion de pyrophosphates — résultant de la transformation des phosphates normaux de l'urine ou formés au cours de sa destruction —, pyrophosphates qui sont très difficilement solubles. Pour les solubiliser complètement, ce qui ne se fait qu'avec peine, il est nécessaire de faire bouillir longtemps le mélange salin dans de l'acide chlorhydrique dilué. On se trouvera de plus en présence d'une grande quantité de liquide, ce qui rendra d'autant plus pénibles les différentes opérations consécutives.

DESTRUCTION NITRO-MAGNÉSIENNE.

L'urine évaporée au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse est traitée par l'acide nitrique en présence de nitrate de

magnésie, dans un ballon de Kjeldahl en pyrex. On évapore à sec, doucement pour éviter les projections, et on calcine. Cette méthode, mise au point par Fontès et Thivolle dans ces dernières années, est actuellement largement utilisée dans les laboratoires de biologie, et présente de très grands avantages lorsqu'on peut opérer sur de petites quantités. Dans notre cas, étant donné que nous étions obligé d'effectuer souvent la destruction de plusieurs centaines de centimètres cubes de liquide, nous avions de grandes difficultés pour en opérer le traitement dans des ballons de dimensions courantes.

MÉTHODE DE FRESENIUS ET BABO.

Lemay et Jaloustre (1), Ducrey (2) ont utilisé cette méthode qui consiste à faire agir sur la substance à détruire le chlore qui prend naissance par réaction de l'acide chlorhydrique sur le chlorate de potasse. Ce procédé nous semble, ainsi que Labat et Péry l'ont déjà signalé, présenter un sérieux inconvénient par suite de la volatilité du chlorure de bismuth. On s'exposerait en lui accordant confiance — jusqu'à plus ample vérification — à perdre une partie du métal que l'on veut rechercher.

DESTRUCTION SULFO-NITRIQUÉ.

Nous nous sommes, en dernier lieu, arrêté à la technique suivante, inspirée directement de celle qu'a proposée Denigès pour la destruction des matières organiques. Cette méthode présente sur les précédentes l'avantage d'être infiniment plus rapide, d'éviter la formation de pyrophosphates insolubles, et par conséquent de faciliter la reprise. Nous verrons qu'en dehors de ces avantages elle présente, sur la calcination en particulier, le très grand intérêt de réduire au minimum l'apport de métaux étrangers, en particulier du cuivre, au cours des opérations.

(1) LEMAY et JALOUSTRE: *C. R. Soc. Biol.*, 24 février 1923, p. 474.

(2) *Políclinico*, 29, 1922, p. 47.

TECHNIQUE.

Dans une capsule de porcelaine de 500 cent. cubes, on évapore l'urine préalablement mesurée ou pesée, par exemple 300 cent. cubes, en ayant soin de l'acidifier dès le début par de petites quantités d'acide nitrique. Cet acide agit lentement sur les matières organiques en fluidifiant le mélange et, de ce fait, la vitesse d'évaporation est considérablement accrue. On évapore au bain-marie, en ajoutant de temps en temps une dizaine de centimètres cubes d'acide nitrique concentré. Lorsque l'évaporation est assez avancée, on ajoute d'un seul coup dans le mélange coloré en jaune 20 cent. cubes d'acide sulfurique, et l'on chauffe la capsule au bain d'air jusqu'à émission de vapeurs blanches. Au début, la réaction est tumultueuse; il se dégage des vapeurs nitreuses dont on facilite le départ en remuant avec un agitateur. On continue à chauffer. On voit apparaître d'abord des vapeurs blanches constituées par de l'eau entraînant des traces d'acide, puis finalement d'autres vapeurs blanches, très denses, d'acide sulfurique. A ce moment, on retire la capsule du feu et on la couvre avec un entonnoir, sous lequel s'amassent les vapeurs. Puis, soulevant légèrement l'entonnoir, on laisse couler en mince filet, le long de la capsule, une nouvelle fraction de 10 cent. cubes d'acide nitrique. En général, après trois ou quatre additions d'acide nitrique, tout dégagement de vapeurs nitreuses cesse, on chauffe jusqu'à apparition de vapeurs blanches, et la solution sulfurique ainsi obtenue est prête pour poursuivre la recherche du bismuth.

SÉPARATION DU BISMUTH DANS LA LIQUEUR PROVENANT DE LA DESTRUCTION SELFO-NITRIQUE.

Le résidu acide préalablement refroidi est repris par l'eau en faisant arriver celle-ci par la douille de l'entonnoir. Il se produit un échauffement considérable qui facilite la dissolution des sels. La solution est diluée par addition d'eau distillée, puis filtrée de façon à éliminer les sels insolubles (sulfate de calcium, etc.). Elle contient sous forme de sulfates le bismuth, ainsi que les différents métaux existant normalement dans l'organisme, comme le fer, le cuivre, le manganèse, le sodium,

le potassium. C'est directement sur une solution acide de cette nature que certains auteurs ont caractérisé le bismuth, en l'y précipitant sous forme de sulfure.

Citons une variante de cette méthode, due à Müller (1). Après avoir calciné l'urine en présence d'oxyde de magnésie, on épuise le résidu par l'acide nitrique. La solution nitrique évaporée est additionnée d'une solution alcaline de sel de Seignette, et traitée ensuite par le sulfure de sodium. Il se produit dans ces conditions un précipité noir que Müller attribue au bismuth.

En fait, la réaction est moins simple.

CAUSES D'ERREUR.

Le bismuth est toujours accompagné d'une notable proportion de cuivre qui donne également un précipité noir de sulfure de cuivre, tant par l'hydrogène sulfuré que par les sulfures alcalins. La présence de ce cuivre cause dans la recherche du bismuth de très grandes difficultés, difficultés que semblent avoir négligées un peu trop facilement tous les auteurs dont nous avons lu les travaux.

Si nous avons pu éviter cette cause d'erreur, c'est simplement parce que, ayant obtenu avec la réaction de Léger des résultats positifs sur de l'urine de lapin normal, nous en avons recherché la cause, et montrerons qu'elle doit être attribuée à la présence du cuivre.

Guerithault (2), auteur d'intéressants travaux sur la présence du cuivre chez les végétaux et dans l'organisme humain, s'exprime ainsi :

« Quant aux appareils de laboratoire utilisés et qui contenaient certaines parties de cuivre : fours à moufle, bains-marie, becs à gaz, ils furent déjà souvent critiqués et donnèrent lieu à de nombreuses discussions. Lossen en particulier, en répétant avec des appareils sans cuivre les expériences d'Ulex qui avait trouvé du cuivre dans la chair, obtint des résultats négatifs. Il n'est pas douteux que les brûleurs pendant l'incinération, et le

(1) H. MÜLLER. *Münch. med. Woch.*, n° 48, p. 1659.

(2) GUERITHAULT. *Thèse Paris*, 1927, Vigot, éditeur.

bain-marie pendant l'évaporation des liqueurs peuvent introduire une certaine quantité de cuivre. Enfin, la plupart des auteurs n'ont pas pris garde à l'utilisation des filtres qui, malgré les lavages répétés, peuvent retenir certaines substances minérales, et en particulier le cuivre.

« En me suggérant l'idée de ce travail, mon maître G. Bertrand m'avait fait part de ses constatations lorsqu'il avait étudié les méthodes de recherche et de dosage du cuivre dans les plantes et chez les animaux. »

Gabriel Bertrand (1), en effet, en étudiant les méthodes de recherche du cuivre sur les êtres vivants, a été amené à constater d'une part les pertes pendant la calcination, d'autre part des apports lors des opérations effectuées à l'aide de brûleurs en cuivre ou en laiton. Il a montré que cette introduction se produit selon toute vraisemblance grâce à la formation à haute température d'un composé très volatile du cuivre, auquel il donne le nom de cuivre carbonyle.

Il en résulte que cet apport est d'autant plus grand que l'on opère par calcination en présence d'une forte quantité de charbon qui, pendant la calcination, fixe énergiquement le cuivre carbonyle. Dans toutes nos recherches, nous avons toujours constaté une notable quantité de cuivre. De sorte qu'il nous est difficile d'accorder confiance aux recherches et dosages de bismuth effectués par action directe de l'hydrogène sulfuré ou des sulfates alcalins sur une solution acide provenant de la destruction d'une urine ou de tout autre liquide organique. Nous ferons le même reproche à la méthode de Müller et Kürthy (2).

Après destruction nitrique et calcination, ces auteurs effectuent ce qu'ils appellent la détermination colorimétrique du bismuth sous forme de sulfure. C'est, disent-ils, une application de la méthode de Siegfried et Pozzi pour le dosage du plomb. L'origine de la méthode réside dans cette remarque que l'intensité de la coloration du sulfure de bismuth, additionné d'une solution colloïdale de gomme arabique, varie proportionnellement à la concentration en bismuth.

(1) G. BERTRAND. *C. R. A. C. S. C.*, 2, 1923, p. 164.

(2) MÜLLER et KÜRTHY. *Biochem. Zeit.*, 149, p. 235 et 238.

Or, nous l'avons signalé, le précipité obtenu est formé non seulement de sulfure de bismuth, mais aussi de sulfure de cuivre; il suffit pour s'en convaincre de faire passer l'hydrogène sulfuré dans la liqueur obtenue par la reprise après calcination d'un résidu d'urine normale, pour constater la présence d'un précipité noir que l'on identifiera facilement à du sulfure de cuivre.

Nous avons cherché à nous mettre autant que possible à l'abri de ces causes d'erreur; nous décrirons point par point la technique qui nous a servi à obtenir des solutions bismuthiques pures.

PRÉCIPITATION PAR L'HYDROGÈNE SULFURÉ.

La solution acide provenant de la destruction sulfo-nitrique est neutralisée par l'ammoniaque acidifiée légèrement par l'acide chlorhydrique, et dans la solution chaude on fait passer l'hydrogène sulfuré à refus. On voit d'abord se former une coloration noire, puis un précipité très fin qui tend à se rassembler au fond de la fiole. Au bout d'une heure environ, la précipitation est complète, le précipité est bien rassemblé. On arrête le courant d'hydrogène sulfuré et on recueille le sulfure formé. Il est constitué par un mélange de sulfure de bismuth et de sulfure de cuivre entraînant des traces de sulfure de fer. On le recueille sur un filtre sans plis et on le lave avec de l'eau chargée d'hydrogène sulfuré. Le précipité est redissous dans l'acide nitrique concentré et chaud, le filtre desséché est calciné, ses cendres reprises par de l'acide nitrique que l'on joint ensuite à la solution précédente. On a ainsi une liqueur contenant du nitrate de cuivre et du nitrate de bismuth.

SÉPARATION DU BISMUTH ET DU CUIVRE.

On sépare le cuivre et le bismuth par précipitation de ce dernier à l'état de carbonate basique de bismuth. Pour ce faire, la solution est additionnée de carbonate d'ammonium cristallisé jusqu'à cessation de l'effervescence, alcalinisée par l'ammoniaque, jusqu'à ce que s'en dégage une odeur franche d'ammoniaque, et chauffée à température voisine de l'ébullition. Il se forme un précipité floconneux de carbonate de bis-

muth, qui se dépose facilement dans la solution colorée en bleu par l'hydrate de cuivre.

On recueille le carbonate de bismuth sur un petit filtre, on lave à l'eau et l'on redissout dans l'acide nitrique. Le filtre est calciné, la solution nitrique de ses cendres jointe à la solution précédente. On précipite à nouveau le bismuth de cette solution nitrique afin d'éliminer les dernières traces de cuivre qui auraient pu être entraînées. Le précipité de carbonate de bismuth est redissous une autre fois dans l'acide nitrique en opérant comme précédemment la calcination du filtre et la reprise des cendres.

On vérifie que la solution nitrique ne contient que des traces de fer au moyen du sulfocyanate de potasse qui donne une coloration rouge même en présence de traces. Si la réaction est franchement positive, il y a intérêt à éliminer cet élément. Pour cela, on neutralise la solution nitrique avec l'ammoniaque, on acidifie légèrement avec l'acide chlorhydrique, et l'on fait à nouveau passer l'hydrogène sulfuré. Le précipité est recueilli et lavé comme précédemment, la solution nitrique évaporée pour éliminer l'excès d'acide.

Dès ce moment, si la quantité de bismuth dans le liquide étudié était suffisante, on reconnaît dans la capsule la présence du métal à l'existence d'un léger enduit jaune brillant à l'aspect bien caractéristique d'oxyde de bismuth.

Cet oxyde est dissous dans une goutte ou deux d'acide nitrique, et la solution nitrique diluée avec 1 ou 2 cent. cubes d'eau.

C'est sur cette solution ne contenant plus que du bismuth que l'on va effectuer la recherche de ce métal.

On est en droit de se demander dans quel but nous prenons autant de soin pour purifier la solution sur laquelle nous allons opérer nos recherches qualitatives. Disons dès maintenant que les deux principaux métaux, fer et cuivre, que l'on trouve associés dans les solutions de bismuth si l'on n'a pas suivi exactement la marche analytique que nous venons de décrire, donnent un résultat positif avec les deux réactions les plus sensibles et d'ailleurs les plus utilisées pour la recherche du bismuth : réaction de Léger et réaction au chlorure stanneux.

Différentes réactions utilisées pour la recherche du bismuth dans une solution purifiée.

1° RÉACTION A L'OXYCHLORURE.

La solution nitrique, amenée au volume de 1 à 2 cent. cubes, est diluée avec 8 cent. cubes d'eau et additionnée d'une solution saturée de chlorure d'ammonium. Si l'on se trouve en présence de quantités relativement notables de bismuth, on voit apparaître un précipité blanc, dû à la formation d'oxychlorure de bismuth insoluble.

Cette réaction se manifeste encore dans une solution diluée à 1 p. 5.000. Au delà de cette dilution, on n'observe plus d'hydrolyse des sels de bismuth. Cette réaction est pour nous spécifique des sels de bismuth. Elle ne se produit qu'avec eux et les sels d'antimoine, qui ne sauraient être mis en cause dans le cas qui nous occupe.

2° RÉACTION AU FORMOL.

Le précipité d'oxychlorure est recueilli, redissous dans une trace d'acide nitrique, et la solution acide est utilisée pour effectuer la réaction au formol. On alcalise très franchement par un grand excès de soude. On ajoute quelques gouttes de formol à 40 p. 100 et l'on chauffe au bain-marie. On voit en général au bout de quelques minutes le liquide se colorer en jaune plus ou moins intense. On ajoute à nouveau formol et alcali, et l'on chauffe à feu nu en prolongeant l'ébullition. On observe alors, en présence de bismuth, la formation d'un précipité noir pulvérulent de bismuth métallique.

Cette réaction est, à notre avis, une des plus précises. Sa sensibilité que l'on peut fixer à la dilution ne donnant plus de précipité perceptible semble être autour de 1 p. 20.000.

3° RÉACTION DE LÉGER.

Le bismuth métal obtenu dans la réaction précédente est recueilli sur un filtre ou mieux par centrifugation, et dissous

dans l'acide nitrique à chaud. La solution est évaporée pour éviter l'excès d'acide nitrique, amenée à dilution convenable avec de l'eau, et additionnée de réactif de Léger. On obtient une coloration et un précipité rouge orangé d'autant plus intense que la quantité de bismuth est plus élevée. Cette réaction qui a été très utilisée dans ces dernières années a déjà fait l'objet de critiques sévères de la part de différents auteurs.

Démelin le premier (1) signale que le fer donne avec le réactif de Léger un précipité assez différent de celui que fournit le bismuth, puisque de couleur jaune franc, et n'apparaissant que tardivement (trente secondes à plusieurs minutes nous a-t-il semblé), alors qu'avec le bismuth la couleur du précipité est d'un rouge brique très caractéristique et son apparition instantanée.

Labat et Péry (2) s'expriment ainsi à propos de la réaction de Léger : « La présence du fer qui précipite aussi est une cause possible d'erreur. En outre, quand on ajoute le réactif à de l'eau azotique, on observe presque toujours plus ou moins vite, une coloration et un louche rougeâtre, même en l'absence de bismuth. Comme nous nous en sommes assurés, des traces de produits nitreux libèrent de l'iode qui agit sur l'alcaloïde à la façon du réactif de Bouchardat. Si on substitue un milieu chlorhydrique au milieu azotique, la réaction perd beaucoup de sa sensibilité. Quand on opère en milieu sulfurique, on obtient des résultats beaucoup plus satisfaisants, mais encore faut-il que l'acide employé ne renferme ni fer, ni produits nitreux. Et même dans ce cas le plus favorable, le louche obtenu est dû à un produit amorphe qui ne constitue pas une bonne pièce à conviction. »

Nous avons pu vérifier par nous-même l'exactitude de ce que disent les auteurs quant à la positivité de la réaction de Léger avec le fer. Nous avons même déterminé sa limite de sensibilité qui, avec une solution titrée de fer est de 1 p. 10.000. A cette dose, on obtient comme avec le bismuth un précipité, mais ce précipité est franchement jaune et met au moins dix secondes à apparaître, tous caractères qui rendent la distinction

(1) DÉMELIN. *Thèse Paris*, 1922, Vanderperre.

(2) LABAT et PÉRY. *Leco chim.*

facile dans ce cas type. Il en est tout autrement si l'on a affaire à un mélange de fer et de bismuth. Le précipité formé est alors loin d'être aussi facile à caractériser. Il revêt un aspect louche, gélatineux, qui à mesure que la précipitation du fer, plus lente, va se complétant, rend de plus en plus difficile l'identification.

Plus malaisée encore est la distinction du bismuth d'avec le cuivre. Ce métal donne en effet avec le réactif de Léger un précipité jaune-rouge, presque immédiatement formé, et qui ressemble à s'y méprendre au précipité d'iodoquinat de bismuth, surtout aux doses variant de 1 p. 5.000 à 1 p. 10.000, la limite de sensibilité de la réaction étant de 1 p. 15.000 environ. Or, si l'on considère que les liquides organiques, particulièrement le sang et l'urine, sont naturellement riches en fer, que d'autre part après les différentes opérations qu'on leur a fait subir leur résidu contient toujours du cuivre, on conçoit qu'il n'est pas trop de toutes les précautions que nous avons minutieusement observées et décrites dans notre technique pour éviter ces deux importantes causes d'erreur.

Ceci mis à part, il faut reconnaître à la réaction de Léger-Aubry une très grande sensibilité qui peut la rendre précieuse dans certains cas.

4° RÉACTION AU CHLORURE STANNEUX.

La solution sur laquelle on vient d'opérer la réaction de Léger est recueillie dans une capsule et concentrée par évaporation au bain-marie. L'iode et la quinine sont volatilisées par calcination, on reprend par l'acide nitrique et dans la solution on effectue la réaction au chlorure stanneux.

Nous procédons de la façon suivante : une petite quantité de réactif au chlorure stanneux est additionnée de soude ; il se produit un précipité abondant de sels d'étain solubles dans un excès de réactif. La solution obtenue est légèrement grisâtre. On en verse une quantité convenable dans la solution nitrique de bismuth, et selon la quantité de ce métal, il se produit soit une coloration brunâtre, soit un précipité noir métallique pulvérulent.

Ici encore existent des causes d'erreur qu'il faut bien connaître.

Le fer jusqu'à 1 p. 10.000 donne d'abord un louche vert brunâtre, puis un précipité vert foncé, gélatineux, qui se rassemble lentement. Le cuivre jusqu'à 1 p. 30.000 donne un léger brunissement comparable à celui causé par de petites quantités de bismuth. Certes, les réactions du cuivre et du fer avec le chlorure stanneux sont assez loin de ressembler à celles du bismuth, mais, mélangés avec celui-ci, ces deux métaux troublent complètement la réaction en donnant même avec de petites quantités de bismuth un abondant précipité brunâtre, amorphe, au lieu du fin précipité noir pulvérulent caractéristique.

On voit donc que, pour cette réaction comme pour la précédente, surtout si l'on veut l'employer au voisinage de sa limite de sensibilité qui est 1 p. 100.000, il est absolument nécessaire d'avoir des solutions bismuthiques d'où ont été soigneusement éliminés le fer et le cuivre.

Notons que l'ordre suivi dans nos quatre réactions est avantageux, parce qu'il permet d'arriver jusqu'à la dernière sans avoir introduit dans la solution bismuthique aucun corps susceptible de gêner la réaction qui suit. On peut ainsi effectuer toutes les recherches nécessaires sur un seul échantillon.

RECHERCHE DU BISMUTH DANS L'URINE DU LAPIN APRÈS INCLUSION INTRAPÉRITONÉALE DE SACS DE COLLODION CONTENANT LE MÉTAL.

Les lapins étaient enfermés dans des cages grillagées au-dessous desquelles on disposait de grandes cuvettes de porcelaine.

L'urine était chaque jour recueillie, mesurée, additionnée peu à peu d'acide nitrique et mise à évaporer au bain-marie. Nous n'avons pu effectuer de recherches quantitatives, mais il nous a été facile de nous rendre compte que les quantités éliminées sont extrêmement faibles; disons seulement, pour donner une idée de leur ordre de grandeur, que nous n'avons jamais pu réussir à caractériser le bismuth dans l'urine de vingt-quatre heures .50 cent. cubes en moyenne) autrement que par une légère coloration en présence du réactif de Léger-Aubry. Pour obtenir avec les quatre réactions que nous avons toujours systématiquement employées le résultat positif de nature à lever tous les doutes, il faut opérer sur 1 litre d'urine environ, c'est-à-dire sur l'urine de dix-huit à vingt jours.

Nous avons ainsi étudié l'élimination chez 8 lapins, pesant de 2 kilogr. 900 à 3 kilogr. 200, la dose uniforme de bismuth métal contenue dans le sac de collodion étant de 0 gr. 3.

Donnons le détail d'une de ces expériences :

Lapin C/35-36; poids : 3 kilogr. 400.

18 août, inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion contenant 0 gr. 3 de bismuth métal.

L'urine est recueillie tous les deux jours, mesurée, additionnée d'acide nitrique, et mise à évaporer dans une capsule où on l'ajoute au résidu déjà existant.

8 septembre. — La quantité totale recueillie étant de 1 litre, on effectue les quatre réactions qui sont toutes positives.

29 septembre. — Le poids de l'animal est de 3 kilogr. 250; on recommence à recueillir l'urine comme précédemment, jusqu'au 18 octobre, où la quantité d'urine est encore de 1 litre.

Les quatre réactions sont positives.

19 octobre. — L'animal est sacrifié. On extrait le sac de collodion et l'on vérifie son intégralité qui est absolue.

De même, chez les six lapins atteints de spirochétose spon-
tanée et traités par du bismuth en sacs de collodion, l'urine

contenait indubitablement le métal, qui n'avait cependant en aucune façon manifesté son activité spirillicide.

Sans doute, se trouve-t-on en présence de doses de bismuth trop faibles, inférieures à la dose thérapeutique, ainsi que cela se passe chez les malades qui absorbent du bismuth *per os*, et qui l'éliminent par l'urine, sans que les lésions syphilitiques concomitantes en soient aucunement influencées.

Recherches sur la présence du bismuth dans les leucocytes.

Les expériences ci-dessus établissent d'une façon irréfutable que l'englobement n'est pas indispensable à la solubilisation des particules de bismuth métal. Il ne s'ensuit pas qu'il faille refuser aux leucocytes tout rôle dans cette solubilisation, car, nous l'avons déjà fait remarquer, à côté de l'action phagocytaire directe il existe une action indirecte par des sécrétions extracellulaires qui peuvent avoir un rôle primordial dans la solubilisation du métal.

Il est évidemment difficile de fournir la preuve expérimentale de cette hypothèse, mais nous avons cependant remarqué un fait qui milite en sa faveur.

Chaque fois que nous retirions un sac de collodion après un séjour de une ou plusieurs semaines, nous le retrouvions non pas libre dans la cavité péritonéale, mais entouré d'une gaine fibrineuse infiltrée d'un nombre considérable de leucocytes. Il semble donc que ces leucocytes soient venus là attirés par la présence d'un corps étranger, et tout porte à croire qu'ils émettent des produits qui, passant à travers la barrière perméable, vont solubiliser le métal. Celui-ci est ensuite répandu dans l'organisme par la voie sanguine, comme semblent le prouver les recherches de Démélin, Hunkel, Christiansen et ses collaborateurs, et enfin les nôtres, dont nous détachons l'expérience suivante :

Bouc blanc pesant 38 kilogrammes.

2 octobre. — Inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion contenant 1 gramme de bismuth métal.

12 octobre. — On recueille, par ponction de la jugulaire, 450 cent. cubes de sang.

Ce sang est traité suivant la méthode que nous avons décrite pour l'urine, et les quatre réactions caractéristiques, effectuées l'une après l'autre, démontrent la présence de bismuth en quantité notable.

Or, les recherches de Stassano à la suite d'injections de mercure, ont établi que les leucocytes du sang circulant contiennent la plus grande partie de cet élément, alors que le plasma et les globules rouges n'en renferment pas, ou si peu qu'on n'arrive pas à le déceler chimiquement.

Nous avons répété ces expériences en ce qui concerne le bismuth.

N'ayant pas, à ce moment, de chien à notre disposition, et devant la quasi impossibilité d'obtenir chez la chèvre la séparation absolue des leucocytes et des globules rouges, nous avons dû effectuer sur le chat l'expérience suivante :

Chat tigré : 4 kilogr. 750.

24 septembre. — Inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion contenant 0 gr. 45 de bismuth élément.

5 octobre : on sacrifie l'animal en prélevant par ponction de la carotide 140 cent. cubes de sang, recueillis sur eau physiologique citratée. La sédimentation des globules rouges est rapide, et par centrifugation du liquide surnageant on obtient une petite pastille de leucocytes sur laquelle, après destruction, on effectue les recherches destinées à caractériser le bismuth. Seule la réaction de Léger est très faiblement positive, alors qu'elle est absolument négative sur des quantités égales de globules rouges et de plasma.

Dans le but de recueillir une plus grande quantité de leucocytes, nous avons eu recours à la méthode des abcès de fixation déjà employée par certains auteurs dans des cas semblables. Carles (1) dit avoir ainsi décelé le bismuth dans un abcès de fixation, après ingestion de sous-nitrate de bismuth.

Voici une de nos expériences qui confirme les siennes :

Chien brun, pesant 12 kilogrammes.

9 octobre : injection intrapéritonéale de 1 cent. cube de bismuth métal à 10 p. 100; quelques minutes après, injection sous-cutanée au flanc gauche de 1 cent. cube d'essence de térébenthine.

11 octobre : large placard d'œdème dans la région de l'injection de térébenthine.

12 octobre : abcès de fixation en voie de collection.

14 octobre : l'abcès est gros et fluctuant.

16 octobre : l'animal a maigri de 1 kilogr. 500. On ponctionne et l'on recueille 130 grammes d'un pus épais et crémeux. Après destruction de ce pus et traitement comme pour l'urine, on effectue des recherches qualitatives qui démontrent la présence de bismuth en quantité notable.

(1) CARLES. *C. R. Soc. Biologie*, 1910, p. 327.

Nous avons obtenu le même résultat en examinant le pus d'un animal qui avait reçu du bismuth en sac de collodion, comme le montre l'expérience suivante :

Chatte grise : 3 kilogr. 600.

23 octobre : inclusion intrapéritonéale d'un sac de collodion contenant 0 gr. 3 de bismuth métal.

24 octobre : injection sous-cutanée au flanc gauche, partie déclive, de 1 cent. cube d'essence de térébenthine.

26 octobre : œdème de la région injectée.

28 octobre : abcès collecté fluctuant.

30 octobre : ponction de l'abcès. On recueille 45 cent. cubes de pus

Après destruction et traitement habituel, les quatre réactions effectuées sur le résidu sont franchement positives.

CONCLUSIONS.

1° Après introduction de bismuth élément dans la cavité péritonéale, on observe un englobement très actif des particules métalliques par les macrophages. Ce phénomène est suivi d'une disparition progressive de ces particules, disparition qui semble bien indiquer une solubilisation par les ferments leucocytaires.

2° L'examen de la paroi de l'épiploon après injection intrapéritonéale permet d'observer l'accumulation du bismuth sur cet organe, sous forme d'ilots isolés entourés d'une couche épaisse de leucocytes.

Parmi ces leucocytes, les macrophages sont à peu près les seuls à montrer des inclusions intracellulaires.

3° Le bismuth introduit directement dans la cavité péritonéale agit sur le *Spirochæta cuniculi* aussi efficacement que lorsque l'injection est pratiquée dans le muscle, c'est-à-dire dans un milieu complexe au point de vue histologique.

4° Le bismuth enfermé dans un sac de collodion introduit dans la cavité péritonéale n'exerce aucune action curative.

5° Toutefois, l'analyse chimique montre que, dans ces conditions, le bismuth est éliminé en très faible quantité par la voie urinaire.

Corrélativement, nous avons observé la présence d'une certaine quantité de bismuth dans le sang total.

6° Toujours dans les mêmes conditions opératoires (expériences des sacs de collodion) nous avons pu, dans les leucocytes du sang circulant, déceler la présence de traces de bismuth, mais seulement à l'aide de la réaction de Léger.

7° D'autre part :

a) Dans les leucocytes provenant d'un abcès de fixation, provoqué chez un animal dont la cavité péritonéale renferme du bismuth en sac de collodion, on obtient les réactions caractéristiques du métal, mais avec une faible intensité.

b) Par contre, dans les leucocytes provenant d'un abcès de fixation provoqué chez un animal qui a reçu une injection de bismuth dans la cavité péritonéale, les réactions caractéristiques du métal ont été fortement positives.

L'ensemble de ces données nous porte à croire que la phagocytose joue un rôle notable dans l'action des composés bismuthiques sur les trypanosomiasés et les spirilloles.

Toutefois, nous devons noter que nous ne sommes pas parvenu jusqu'à présent à éliminer complètement par l'expérimentation l'intervention possible des éléments du sérum étrangers aux phagocytes, dans le processus de transformation des composés bismuthiques.

Vu : *Le Président de la Thèse,*

P. CARNOT.

Vu : *Le Doyen de la Faculté,*

H. ROGER.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

